Aus dem Pathologischen Institut der Universität Düsseldorf
Direktor: Professor Dr. W. Hort

Der Einfluß von Strahlen und Zytostatika auf den Gehalt an DNS in den Kernen von Tumorzellen und Lymphozyten

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Zahnmedizin.

Der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf vorgelegt

von

Wolfgang Frieß

1979

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Düsseldorf
Direktor: Professor Dr. W. Hort

Der Einfluß von Strahlen und Zytostatika auf den Gehalt an DNS in den Kernen von Tumorzellen und Lymphozyten

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Zahnmedizin.

Der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf vorgelegt

von

Wolfgang Frieß

1979

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

Der Dekan
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

gez.: Prof. Dr. Reinauer

Referent
gez.: Prof. Dr. Dr. Pfitzer

Korreferent
gez.: Prof. Dr. Dr. Koblin

Herrn Professor Dr. Dr. P. Pfitzer möchte ich für die Überlassung des Themas, die freundliche Unterstützung und stete Hilfsbereitschaft bei der Anfertigung der vorliegenden Arbeit danken.

Weiter gilt mein Dank Herrn Professor Dr. Dr. H.-D. Pape für die Möglichkeit, die Abstriche in seiner Abteilung durchzuführen und für die Durchsicht der Arbeit.

Herrn Professor Dr. H. Sack danke ich für die Durchführung der Strahlentherapie.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41544323_0072

DER EINFLUSS VON STRAHLEN UND ZYTOSTATIKA AUF DEN GEHALT AN DNS IN DEN KERNEN VON TUMORZELLEN UND LYMPHOZYTEN

Inhaltsübersicht

1.	Einleitung	1
2.	Material und Methode	3
21.	Materialgewinnung	3
22.	Auswertung	5
3.	Ergebnisse	7
31.	radiologisch behandelte Fälle	7
311.	Histogramme	7
312.	T-Test Ergebnisse	9
313.	klinischer Verlauf	10
32.	chemotherapeutisch behandelte Fälle	10
321.	Histogramme	10
322.	T-Test Ergebnisse	11
323.	klinischer Verlauf	13
4.	Diskussion	20
41.	radiologische und chemotherapeutische Behandlung von Mundschleimhauttumoren	20
42.	DNS-Untersuchungen bei Tumoren	22
421.	DNS-Charakterisierung mit Hilfe der Feulgen-Zytophotometrie	22
43.	DNS-Untersuchungen bei Tumoren des Kiefer-Gesichtsbereichs	24
44.	therapiebedingte Reaktionen der Tumorzellen	25
45.	Kontrolle des Therapieverlaufs an Hand von Veränderungen im Kern-DNS-Gehalt von Tumorzellen und Lymphozyten	27
451.	DNS-Gehalt der Lymphozyten als diploider Vergleichswert	27

452. Einflüsse der Therapie auf den Gehalt an DNS in den Kernen der Lymphozyten und kleinen Tumorzellen 27

5. Zusammenfassung 30

6. Literaturverzeichnis 32

Tabelle 8
Abb. 1a-d : Histogramme der radiologisch behandelten Patienten 15
Abb. 2 : Verlauf der Signifikanz während der radiologischen und zytostatischen Therapie 16
Abb. 3a-c : Histogramme der zytostatisch behandelten Patienten G.P., N.L., M.A. 17
Abb. 4a/b : Histogramme der zytostatisch behandelten Patienten Sch.K., J.J. 18
Abb. 5a-c : Histogramme der zytostatisch behandelten Patienten B.E., R.A., J.W. 19

1. Einleitung

Tumorzellen zeigen im histologischen Bild eine gestörte Kern-Plasma Relation: der Kern ist gegenüber dem Plasma vergrößert. Die Gründe dafür liegen u.a. in der im Gegensatz zu Normalgeweben veränderten Chromosomenzahl der malignen Zellkerne (KOLLER, 1972). Die höhere Chromosomenzahl äußert sich bei zytophotometrischen Messungen der DNS in einer Vergrößerung der absoluten Absorptionswerte im Vergleich zu den Meßergebnissen von Lymphozytenkernen, die einen diploiden Chromosomensatz besitzen (ATKIN und RICHARDS, 1956, ATKIN et al., 1966, BADER, 1953, BAUKE und SCHÖFFLING, 1968).

Maligne entartete Gewebe proliferieren darüberhinaus sehr schnell. Sie unterliegen deshalb der zytotoxischen Wirkung von energiereichen Strahlen und Mitosegiften chemischer Natur, die aber gleichzeitig unspezifisch auf alle Körpergewebe mit hoher Proliferationsrate wirken. Durch Weiterentwicklung der Techniken der Strahlentherapie und durch die Entdeckung neuer Zytostatika, die sich selektiv in bestimmten Körpergeweben anreichern, unterschiedliche pharmakologische Angriffspunkte haben und sich bei Kombination in ihren toxischen Wirkungen auf den Gesamtorganismus unterscheiden, ist es gelungen, eine additive oder potenzierte tumorspezifische Wirkung zu erreichen.

Aufgabe dieser Arbeit ist es, den Einfluß von Strahlen und Zytostatika auf den Kern-DNS-Gehalt von Tumorzellen und Lymphozyten in Abhängigkeit von der Therapie zu untersuchen. Wir bedienten uns dabei der selektiven Messung einer sehr begrenzten Zahl an Kernen mit dem Scanning-Zytophotometer, da das hier zu untersuchende

Material nur schwer in ausreichender Menge für die nicht-selektiven Messungen mit der " high-speed " Registrierung großer Zellpopulationen durch das Durchflußzytophotometer (PFITZER et al., 1978) zu gewinnen gewesen wäre.

2. Material und Methode

21. Materialgewinnung

Das Material entstammt dem Patientengut der Abteilung für Mund- und Kieferchirurgie der Universitäts Zahn-, Mund- und Kieferklinik Köln. Insgesamt wurden zwölf Patienten mit Mundschleimhauttumoren untersucht, wovon vier radiologisch und acht zytostatisch behandelt wurden. Die radiologisch behandelten Patienten waren zwischen 50 und 79 Jahre alt, das Alter der zytostatisch behandelten Patienten lag zwischen 45 und 71 Jahren. Das Durchschnittsalter bei der radiologischen Gruppe betrug 67,5 Jahre, das der zytostatischen Gruppe 56,5 Jahre. Mit Ausnahme des Spindelzellsarkoms bei dem Patienten A.A. handelt es sich ausschließlich um verhornende Plattenepithelkarzinome aus dem Bereich der Mundhöhle. Dabei überwiegen die Geschwülste der Zunge und des Mundbodens mit insgesamt sechs Fällen, zwei Tumoren liegen am Unterkieferalveolarfortsatz und jeweils ein Malignom ist in der Wange, im Oberkiefer und am harten Gaumen lokalisiert.

Alle Tumoren sind durch das TNM-System erfaßt. Aus der Einteilung ist zu ersehen, daß in fünf Fällen keine palpablen Lymphknoten vorhanden sind, während der Primärtumor in seiner größten Ausdehnung mehr als zwei Zentimeter mißt oder aber sich auf andere anatomische Strukturen ausdehnt. In weiteren fünf Fällen treten bewegliche homolaterale Lymphknoten auf, wobei die Primärtumoren eine Größe von zwei Zentimetern überschreiten. In zwei Fällen bestehen bewegliche kontralaterale oder bilaterale Lymphknoten. Die dazugehörenden Primärtumoren dehnen sich über mehr als zwei Zentimeter aus. Wenn Größe und Lokalisation des

Malignoms oder der Allgemeinzustand des Patienten eine sofortige weiträumige Entfernung des Tumors nicht zuließen, wurde die radiologische oder zytostatische Behandlung durchgeführt. Die Operation folgte meistens auf die Radio- oder Chemotherapie. In einigen Fällen diente die Therapie aber auch zur alleinigen Bekämpfung des Tumors.

Die Radiotherapie wurde im strahlentherapeutischen Institut der Universitätsklinik Köln durchgeführt. Zur zytostatischen Therapie wurden Methotrexat (MTX) und Bleomycin verwendet. Die Applikation erfolgte nach einem vorher festgelegten Therapieplan (BITTER, 1973) intraarteriell oder intravenös (SCHEUNEMANN, 1966). Die Gesamtdosis Bleomycin beträgt im allgemeinen 300 mg. Sie teilt sich in 20 Tagesdosen zu 15 mg auf. Nach sechs aufeinanderfolgenden Bleomycininjektionen erfolgt die erste von insgesamt vier MTX-Applikationen zu 450 mg. Für die Gabe von MTX wird die Bleomycin-Kur jeweils für zwei bis drei Tage unterbrochen, so daß sie sich über einen Zeitraum von bis zu 30 Tagen erstreckt. Während dieser Zeit erfolgt eine regelmäßige Kontrolle des Blutbildes und der Lunge. Die aufgetretenen Differenzen in der applizierten Gesamtmenge beruhen auf der unterschiedlichen individuellen Reaktion der Patienten auf die Medikamente.

Bei Plattenepitheltumoren unterscheidet man das papillomatöse und das ulzerierte Karzinom. Das papillomatöse Karzinom wächst zu einem Teil exophytisch und erhebt sich über das Niveau der Oberfläche, während es an der Basis infiltrierend in die tieferen Schichten eindringt. Bei weiterem Wachstum kommt es im Zentrum zu einem Ulkus, da das schnell wachsende Geschwulstparenchym dort nicht mehr ausreichend von dem langsamer wachsenden Stroma ernährt werden kann. Nicht ulzerierte Geschwulste scheiden wegen der Schwierigkeit,

Untersuchungsmaterial zu gewinnen, aus dieser Untersuchung aus. Um zytologisch auswertbares Material zu erhalten, ist der erste Abstrich mit Hilfe eines Spatels oder Wattetupfers vor Beginn der Therapie, meist anläßlich der Probeexcision, genommen worden. Nach Therapiebeginn erfolgen die Abstriche in wöchentlichen Abständen. Der Ausstrich wird sofort in absolutem Alkohol fixiert und dort dreißig Minuten belassen. Die Gewinnung des Untersuchungsmaterials gestaltete sich wegen der auftretenden Nekrosen während der Therapie immer schwieriger, gleichzeitig wird durch die Kerntrümmer die Auswertung erschwert.

22. Auswertung

Die Objektträger wurden nach der Feulgen-Methode gefärbt und in Eukitt eingeschlossen. Die zytophotometrischen DNS-Bestimmungen wurden mit dem Scanningzytophotometer SMP/Zeiss mit monochromatischem Licht der Wellenlänge 570 nm durchgeführt. Angeschlossen war der Prozeßrechner PDP 12, wobei APAMOS II als Programm benutzt wurde. Schritt- und Feldgröße betrugen 0,5 μ. In jedem Ausstrich wurden zwanzig Tumorzellkerne und als diploider Vergleichswert zehn Lymphozytenkerne gemessen. Bei den Tumorkernen handelte es sich um mindestens zehn Normalgroße und, soweit vorhanden, um einige durch ihre Größe Auffallende (PFITZER und PAPE, 1973). Es liegen somit selektive Messungen vor. In den Histogrammen wurden die Tumorzellkerne auf der Abszisse nach oben und die Lymphozytenkerne nach unten eingetragen. Insgesamt wurden 55 Abstriche genommen und davon Histogramme angefertigt, wobei zu beachten ist, daß die Zahl der Histogramme bei den einzelnen Patienten unterschiedlich ist. Da sich im Laufe der Untersuchung ergab, daß die als Bezugsgröße gewählten Lymphozyten nicht immer in gleicher Weise um -10% vom theoretischen diploiden DNS-Wert abweichen

(HALE, 1963), wurde auf eine genaue Markierung der 2C Werte in den Histogrammen verzichtet.

Statistische Berechnungen hinsichtlich der Unterschiede des mittleren DNS-Gehaltes der diploiden Lymphozytenkerne und der kleinen im 2C Bereich liegenden Tumorzellkerne wurden mittels des Student-Verfahrens (T-Test) durchgeführt.

Wegen des langen Zeitraumes, über den sich die Untersuchung erstreckt, ist die Färbung nicht in einem Arbeitsgang durchgeführt worden. Hieraus erklären sich einige der Unterschiede in den Durchschnittswerten der einzelnen Färbeserien bei der Auswertung.

3. Ergebnisse

In den vor Beginn der Therapie erhaltenen Histogrammen zeigen die Geschwulste in elf Fällen Wertehäufungen im 2C Bereich und im Fall J.W. eine Anhäufung im 4C Bereich. Der Begriff Tumorstammlinie wird wegen der kleinen Stichprobe nicht benutzt.

31. radiologisch behandelte Fälle

311. Histogramme

Die Wertehäufungen aller radiologisch behandelten Patienten liegen vor Beginn der Therapie im 2C Bereich (Abb. 1). Auffallend ist, daß in den meisten Fällen während der Behandlung Abweichungen zwischen dem 2C Wert der Lymphozyten, die als Kontrolle dienen, und dem der kleinen Tumorzellkerne auftreten. Diese Unterschiede sind sehr stark im Fall B.St. (Abb. 1d). Während vor Behandlungsbeginn Lymphozyten und Tumorzellen den gleichen DNS-Gehalt im Zellkern aufweisen, sinkt der Lymphozytenwert bis zum 11. Tag ab. Am 18. Tag ist der 2C Wert der Lymphozyten größer und am 26. Tag geringer als der der kleinen Tumorzellen. Am 34. Tag ist kein Unterschied feststellbar. Im Fall B.D. (Abb. 1c) weicht der 2C Wert der beiden Zellpopulationen dagegen nur unwesentlich voneinander ab. Bei dem Patienten Sch.W. (Abb. 1a) stimmt der 2C Wert der Lymphozyten zu Beginn mit dem der kleinen Tumorzellen überein, wird dann aber kleiner. Ähnlich verhält es sich im Fall A.A. (Abb. 1b).

Während der Behandlung bleibt in allen vier Fällen

	Patient	Tumor	TNM	Dosis	Regression	anschl. Maßnahmen
radiolog.	B.D. 50J.	verhornendes Plattenepithelkarzinom der Zunge	$T_3N_0M_0$	Körperhöhlenrohr 5000 rad	vollständig	Operation
	A.A. 68J.	Spindelzellsarkom	$T_3N_1M_0$	Telekobalt 5000 rad	deutlich	Weiterbehandlung von Pat. abgebrochen
	B.St. 72J.	verhornendes Plattenepithelkarzinom der Zunge	$T_2N_1M_0$	Telekobalt 4600 rad	vollständig	Nachbestrahlung
	Sch.W. 79J.	verhornendes Plattenepithelkarzinom am harten Gaumen	$T_3N_0M_0$	Telekobalt 4200 rad	deutlich	Abbruch der Behandlung wegen reduziertem AZ
zytostatisch	R.A. 42J.	verhornendes Plattenepithelkarzinom im Oberkiefer	$T_3N_0M_0$	180 mg Bleo 1400 mg MTX	deutlich	Behandlung v. Pat. während der Therapie abgebrochen
	G.P. 45J.	verhornendes Plattenepithelkarzinom am Uk-Alveolarforts.	$T_3N_2M_0$	300 mg Bleo 1350 mg MTX	deutlich	Operation
	J.W. 49J.	verhornendes Plattenepithelkarzinom im Mundboden	$T_4N_1M_0$	300 mg Bleo 400 mg MTX	vollständig	Nachbestrahlung
	B.E. 51J.	verhornendes Plattenepithelkarzinom am Zungengrund	$T_3N_0M_0$	150 mg Bleo 450 mg MTX	----	Pat. während der Therapie verstorben
	M.L. 63J.	verhornendes Plattenepithelkarzinom im Mundboden	$T_3N_1M_0$	300 mg Bleo 1800 mg MTX	deutlich	Operation
	Sch.K. 65J.	verhornendes Plattenepithelkarzinom am Uk-Alveolarforts.	$T_3N_1M_0$	300 mg Bleo 1650 mg MTX	deutlich	Operation
	J.J. 66J.	verhornendes Plattenepithelkarzinom im Bereich der Wange	$T_4N_0M_0$	330 mg Bleo 1350 mg MTX	keine	palliative Maßnahmen
	M.A. 71J.	verhornendes Plattenepithelkarzinom der Zunge	$T_3N_2M_0$	300 mg Bleo 1650 mg MTX	deutlich	Weiterbehandlung v. Pat. abgebrochen

Tabelle : Übersicht über Patientengut, Tumorform, Tumorgröße, Dosis, Regression und anschließende Maßnahmen

die Wertehäufung der Tumorzellen im 2C Bereich bestehen, allerdings steigt die Zahl der Zellkerne, die oberhalb eines Grenzwertes von 3C liegen und mit Sicherheit nicht mehr zur 2C-Gruppe gehören, in einigen Fällen vorübergehend an. Im Fall B.St. (Abb. 1d) finden sich solche Zellkerne vor Beginn der Behandlung, sowie am 11. und 26. Tag. Im Fall B.D. (Abb. 1c) zeigen nur die Abstriche des O. und des 8. Tages hypertetraploide Kerne. Der Patient Sch.W. (Abb. 1a) weist in allen drei Histogrammen Kerne oberhalb von 3C auf, während diese bei dem Patienten A.A. (Abb. 1b) vor Beginn der Behandlung fehlen, im Verlauf der Therapie aber auftreten.

312. T-Test Ergebnisse

Die Unterschiede zwischen dem 2C Wert der kleinen Tumorzellkerne und der Lymphozytenkerne werden mit dem T-Test auf ihre Signifikanz geprüft und in Verlaufskurven zusammengestellt (Abb. 2). Hierbei ergibt sich, daß in allen radiologisch behandelten Fällen während der Therapie ein meist früh einsetzender Anstieg der Signifikanz zu beobachten ist. In den beiden über einen Zeitraum von 35 bzw 34 Tagen behandelten Fällen zeigt sich gegen Ende der Behandlung ein Absinken der Werte, es tritt also eine Angleichung der DNS-Werte der beiden Zellpopulationen ein. Im Fall Sch.W. ist der letzte Abstrich bereits nach 19 Tagen angefertigt worden, so daß der weitere Verlauf nicht kontrollierbar ist. Der Fall des Spindelzellsarkoms A.A. verhält sich zu Beginn entsprechend den bei den verhornenden Plattenepithelkarzinomen gefundenen Werten, ist dann über einen langen Zeitraum jedoch nicht zytophotometrisch zu beobachten, da nur nekrotisches Material zur Verfügung stand. Über den Verlauf der Werte zwischen dem 2. und 45. Tag

kann somit keine Aussage gemacht werden.

313. klinischer Verlauf

Im klinischen Verlauf zeigen die Fälle B.D. und B.St. eine vollständige Regression. Im Fall Sch.W. geht der Tumor deutlich zurück, allerdings muß die Therapie wegen des reduzierten Allgemeinzustandes des Patienten abgebrochenwerden. Dagegen ist die Behandlung des Patienten A.A. zu Ende geführt worden. Der Tumor zeigt zu diesem Zeitpunkt eine deutliche Regression.

32. chemotherapeutisch behandelte Fälle

321. Histogramme

Die Histogramme der acht chemotherapeutisch behandelten Patienten zeigen vor Beginn der Behandlung in sieben Fällen eine Wertehäufung im 2C Bereich und in einem Fall eine Wertehäufung im 4C Bereich (Abb. 3, 4, 5). Bei Abschluß der Behandlung befinden sich die Wertehäufungen alle im 2C Bereich. Der Behandlungsverlauf ist jedoch sehr uneinheitlich. Im Fall J.J. (Abb. 4b) streuen die Werte der kleinen Tumorzellen und auch die der Lymphozyten teilweise sehr breit im 2C Bereich. Bei dem Patienten Sch.K. (Abb. 4a) sind die kleinen Tumorzellen dagegen in allen Histogrammen auf einen sehr engen Raum lokalisiert. Die Lymphozyten nehmen nur im Histogramm des 25. Tages einen breiteren Raum ein. Ein ähnliches Bild vermitteln auch die Histogramme fast aller anderen zytostatisch behandelten Patienten. Lediglich die Histogramme des Patienten P.G. (Abb. 3a) weichen etwas ab. Hier beschränken sich die Lymphozyten

auf einen sehr engen Raum. Die kleinen Tumorzellkerne streuen mit zunehmender Behandlungsdauer.

Bei nahezu allen Patienten schwankt die Anzahl der Werte, die oberhalb des Grenzwertes von 3C liegen, nur geringfügig. Gemeinsam ist den meisten Histogrammen eine Rechtsverschiebung des Kern-DNS-Gehaltes kurz nach Beginn der Therapie. Etwas deutlichere Veränderungen bestehen lediglich im Fall J.W. (Abb. 5c), wo der Anteil der höherwertigen Kerne sofort absinkt, sowie im Fall G.P. (Abb. 3a), der trotz der Therapie einen recht kontinuierlichen Anstieg der Zahl der Kerne mit einem DNS-Gehalt über 3C zeigt.

322. T-Test Ergebnisse

Im T-Test ergibt die chemotherapeutisch behandelte Gruppe ein wesentlich uneinheitlicheres Bild als die Gruppe der radiologisch behandelten Patienten (Abb. 2). Bei den Fällen R.A. und B.E. ist die Differenz schon im ersten Histogramm signifikant. Während der Fall B.E. signifikant bleibt, zeigt der Fall R.A. Schwankungen.

Die Veränderungen der T-Werte während der Behandlung sind in drei Gruppen dargestellt. Die erste Kurve umfaßt die Fälle J.J. und Sch.K., die durch ihre Schwankungen während der Therapie bemerkenswert sind. Im Fall J.J. folgen nach einem ersten Anstieg nach vier Tagen deutlich niedrigere Werte am 10. und 19. Tag, während die Differenz am 25. Tag wieder hochsignifikant ist. Daran anschließend erscheint erneut ein niederer Wert am 32. Tag, gefolgt von einem Anstieg am 38. Tag. Auch im Fall Sch.K. steigt der

Wert bis zum 12. Tag steil an. Danach folgen am 18., 25. und 33. Tag nicht signifikante Werte. Erst zum Abschluß der Behandlung am 39. Tag steigt der Wert wieder an.

Weit geringere Schwankungen zeigen die Fälle N.L., G.P. und M.A.. Im Fall M.A. tritt kein signifikanter Unterschied auf. Im Fall N.L. steigt der Wert bis zum 8. Tag langsam und dann bis zum 13. Tag steil an. Die Werte des 21. und 28. Tages bleiben im signifikanten Bereich. Die Kurve im Fall G.P. unterliegt stärkeren Schwankungen. Sie steigt bis zum 18. Tag leicht an und fällt am 25. Tag wieder ab. Am 31. Tag liegt der Wert dann im hochsignifikanten Bereich, um am 39. Tag wieder abzusinken.

Die Fälle der dritten Gruppe zeigen nur mäßige Veränderungen über relativ kurze Zeiträume und erlauben deshalb keine eindeutige Beurteilung. Im Fall B.E. liegen nur zwei Werte vor, die einen Anstieg dokumentieren. Im Fall R.A. ist demgegenüber ein Absinken der Signifikanz deutlich zu erkennen. Bei der Patientin J.W. zeigen die drei zeitlich sehr weit auseinanderliegenden Werte keine wesentlichen Unterschiede.

Die Schwankungen der T-Werte während der Therapie sind teilweise sehr stark. Deshalb ist auch die Signifikanz der Mittelwerte der Lymphozyten und der Tumorzellen innerhalb verschiedener Serien berechnet worden. Voraussetzung dafür ist, daß alle Präparate einer Serie gemeinsam gefärbt sind, was nur bei zwei Patienten der Fall ist. Die Ergebnisse beider Fälle unterscheiden sich. Im Fall G.P. bestehen zwischen den Mittelwerten der Lymphozyten während des Behandlungsverlaufs signifikante Unterschiede, während

dies für die Tumorzellen nicht zutrifft. Bei den Lymphozyten erfolgt bis zum 11. Tag ein signifikanter Anstieg des Mittelwertes, der dann bis zum 18. Tag absinkt. Am 25. Tag besteht keine Differenz, dagegen ist bis zum 31. Tag ein erneutes Absinken zu beobachten. Am 39. Tag ist der Lymphozytenwert signifikant erhöht. Auch im Fall N.L. zeigen die Tumorzellen keine Signifikanz. Zu beachten ist hier jedoch, daß eine eindeutige Gruppeneinteilung durch die große Streuung der Werte erschwert wird und manchmal willkürlich erscheint. Dadurch zeigen die Lymphozyten hier ebenfalls keine signifikanten Unterschiede.

Der Versuch, die unterschiedliche Streuung der DNS-Werte innerhalb der einzelnen Histogramme für Lymphozyten und kleine Tumorzellen in Abhängigkeit zu den beschriebenen Veränderungen der Mittelwerte zu setzen, erbringt keine verwertbaren Ergebnisse.

323. klinischer Verlauf

Im klinischen Verlauf zeigen die Patientinnen J.J. und B.E. keine Reaktion auf die Therapie. Während im Fall J.J. die volle Dosis verabreicht worden ist, ist die Patientin B.E. während der Therapie an den Folgen einer Lungenfibrose verstorben. Alle anderen Fälle zeigen eine deutliche oder vollständige Regression. Besonders zu erwähnen ist der Fall G.P.. Während der Therapie tritt hier eine Zellverwilderung auf, wobei 40% der Tumorzellkerne oberhalb des 2C Bereichs liegen und bis in den 8C Bereich hineinragen. Interessant ist in diesem Fall der histologische Befund unmittelbar nach Abschluß der Therapie. Das Tumorgewebe zeigt zu diesem Zeitpunkt keine wesentlichen regressiven Veränderungen, die auf eine

Bleomycin- oder MTX-Behandlung hinweisen könnten. Die Geschwulst zeichnet sich vielmehr durch eine intensive mitotische Aktivität aus.

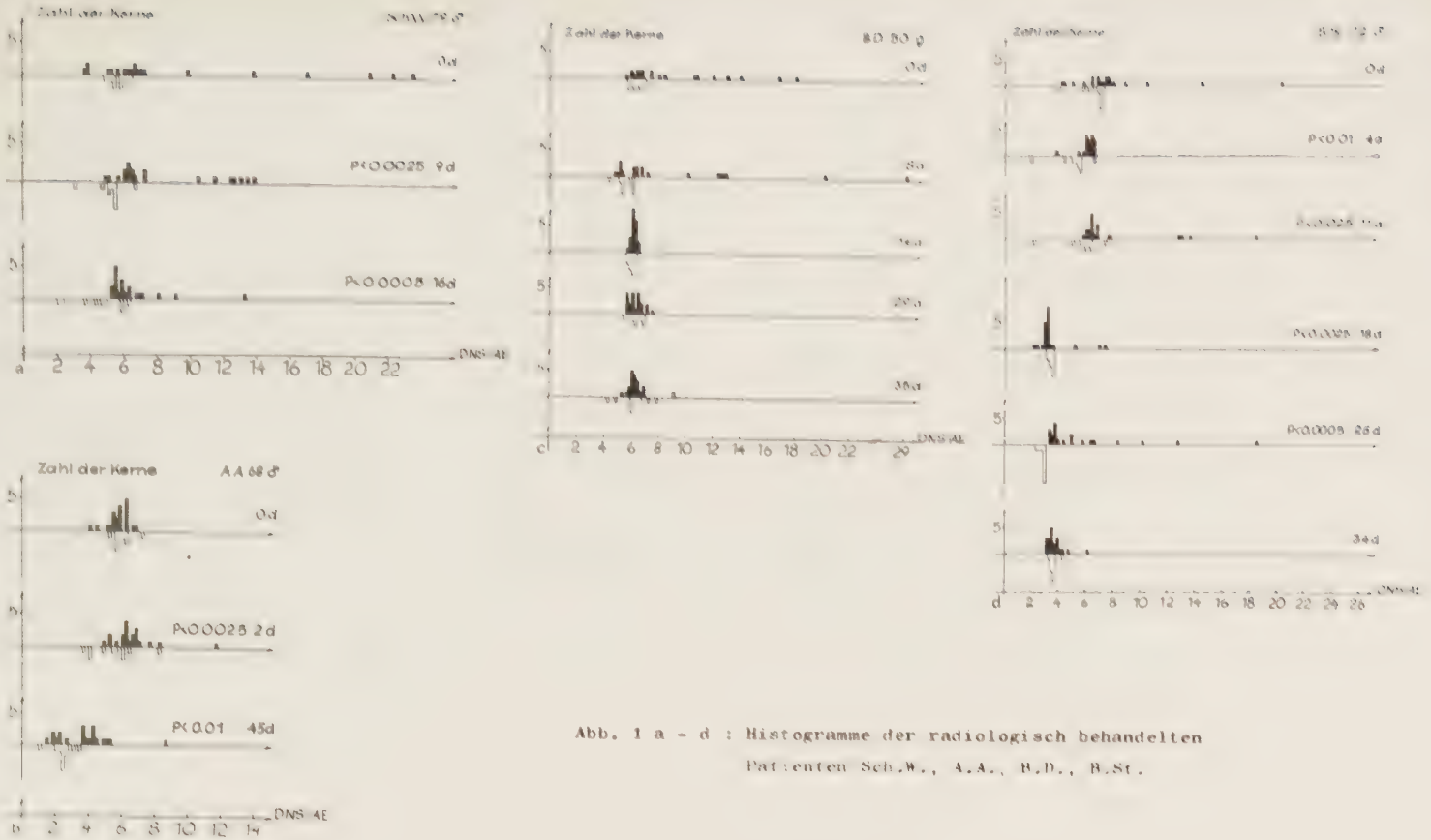

Abb. 1 a - d : Histogramme der radiologisch behandelten Patienten Sch.W., A.A., B.D., B.St.

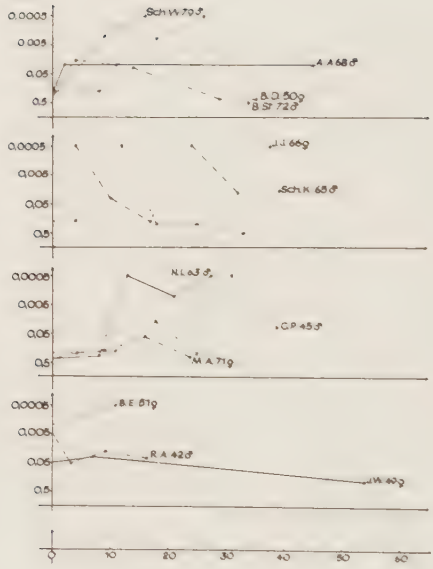

Abb. 2 : Verlauf der Signifikanz während der radiologischen und zytostatischen Therapie

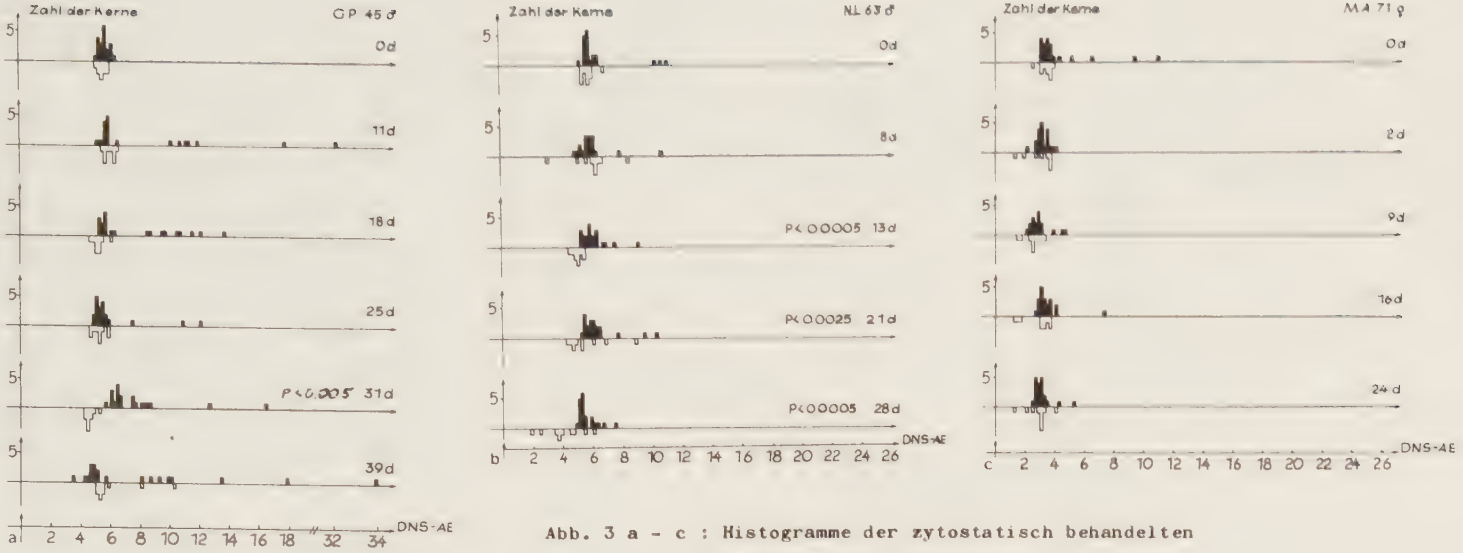

Abb. 3 a - c : Histogramme der zytostatisch behandelten Patienten G.P., N.L., M.A.

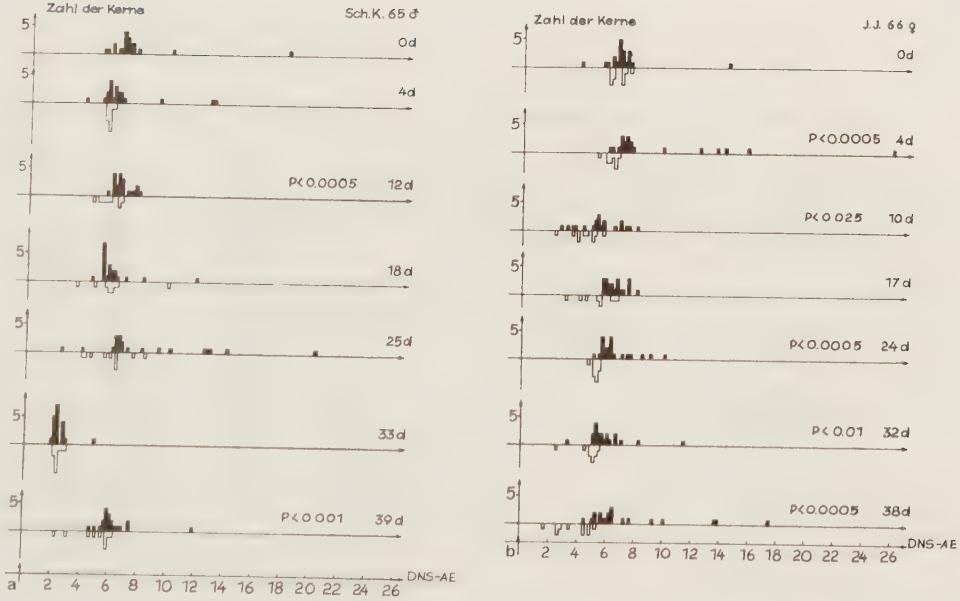

Abb. 4 a,b : Histogramme der zytostatisch behandelten Patienten Sch.K., J.J.

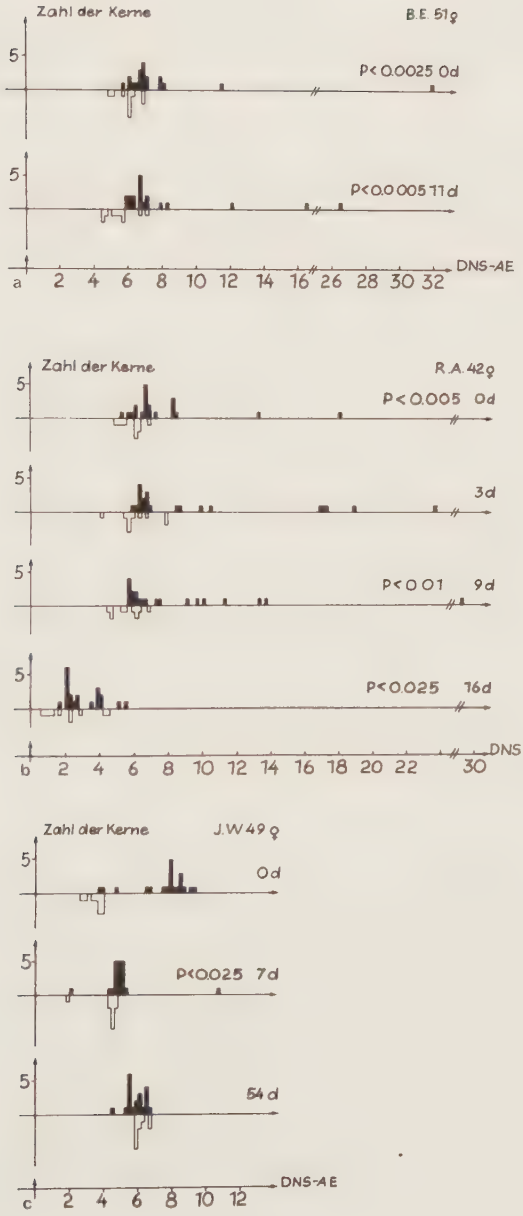

Abb. 5 a - c : Histogramme der zytostatisch behandelten Patienten B.E., R.A., J.W.

4. Diskussion

41. radiologische und chemotherapeutische Behandlung von Mundschleimhauttumoren

Mundschleimhauttumoren wurden früher chirurgisch oder radiologisch bzw mit einer Kombination beider Methoden behandelt. Erst vor einigen Jahren wurden diese Behandlungsmöglichkeiten durch die Chemotherapie erweitert. In der Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde werden vorwiegend die Chemotherapeutike Bleomycin und Methotrexat (MTX) verwendet (SCHEUNEMANN, 1966, BITTER, 1973, KREIDLER, 1976). Bleomycin besitzt sowohl antibiotische wie auch zytostatische Eigenschaften. Die zytostatischen Eigenschaften sind deshalb besonders interessant, weil Bleomycin eine besondere Affinität zu epithelialen Geweben und keine depressive Wirkung auf das Knochenmark besitzt (CHRISTENSEN, 1972). In Kombination mit dem Folsäureantagonisten MTX kommt es lediglich zu einer Addition und keiner Potenzierung der Nebenwirkungen. Die gefährlichste Komplikation bei Bleomycin ist die Lungenfibrose, während MTX eine Leuko- und Thrombozytopenie bewirken kann.

Die Behandlung von Malignomen im Kopf- und Halsgebiet mit Hilfe der Radio- und Chemotherapie bzw der Kombination von beiden wird schon seit einiger Zeit durchgeführt. Die dabei erreichten Tumorremissionen sind sehr uneinheitlich. AUERSPERG und Mitarbeiter (1974) berichten bei der Verwendung von Bleomycin und MTX alleine sowie in Kombination über Remissionen zwischen 50 und 100 Prozent. BAUMBERGER (1973) untersuchte die Wirkung von intravenös verabreichtem Bleomycin bei 20 Patienten mit Tumoren im otorhinolaryngologischen Bereich. Zwei Patienten zeigten eine vollständige Regression, ein Fall eine einige

Zeit dauernde deutliche Verkleinerung. In 17 Fällen war keine oder nur geringe Reaktion feststellbar. BERDAL und Mitarbeiter (1973) empfehlen eine präoperative Behandlung mit Bleomycin, da es die Möglichkeit gibt, eine große Zahl sonst nicht operabler Tumoren operabel zu machen. Sie kombinierten Bleomycin darüberhinaus mit Röntgenstrahlen und erreichten in 26 von 46 Fällen eine vollständige Rückbildung. Eine Kombination von Chemo- und Radiotherapie schlagen auch BERTINO und Mitarbeiter (1973) vor, da die Zytostatika bei alleiniger Anwendung nur temporäre Remissionen von 20 bis 40 Prozent bewirken. Erfolgreicher war die Verwendung von Bleomycin und MTX durch BILDEP und HORNOVA (1974). Die intraarterielle Applikation von Bleomycin ergab eine 25 bis 75 prozentige Tumorremission. Bei einer Kombinationsbehandlung von Bleomycin und MTX wurden sogar 100 prozentige makroskopische Regressionen erreicht. Auch BITTER (1973) berichtet bei Anwendung der Kombination Bleomycin/MTX über Remissionen zwischen 50 und 100 Prozent. BROQUET und Mitarbeiter (1974) benutzten Bleomycin und MTX als palliative Medikamente. Die Tumoren verkleinerten sich zwar erkennbar, verharrten so aber nur kurze Zeit. Eine ähnliche Verwendung fand Bleomycin bei FRIES und WILFERT (1973). Nur in einem von zwölf Fällen war dabei eine vorübergehende, den Tumor verkleinernde Wirkung erkennbar. In sieben Fällen konnte jedoch der Analgetikaverbrauch eingeschränkt werden. Große Erfolge erreichten dagegen BURKHARDT und HÖLTJE (1975), die in fünf von sieben Fällen nach der intraarteriellen Anwendung von Bleomycin histologisch kein verbliebenes Tumorgewebe mehr nachweisen konnten. Das gleiche Ergebnis erreichten DIMOPOULOS und Mitarbeiter (1975) in acht von zehn Fällen, die mit intraarteriellen MTX- und Bleomycininfusionen bei gleichzeitiger Bestrahlung behandelt wurden.

42. DNS-Untersuchungen bei Tumoren

Tumorzellen zeigen im histologischen Schnittpräparat als charakteristische Merkmale die Zell- und Kernpolymorphie. Darüberhinaus ist die Kern-Plasma-Relation zu Gunsten des Kernes verschoben. Diese relative Vergrößerung des Kernvolumens kann einhergehen mit einer Vermehrung der DNS und einer Veränderung der Chromosomenzahl. Dabei kann es zum Auftreten aneuploider Stammlinien in den Tumoren kommen (KOLLER, 1972). BÖHM und SANDRITTER (1975) berichten im Rahmen einer Übersichtsarbeit bei der Untersuchung von 97 eigenen Tumoren verschiedener Lokalisation über lediglich vier euploide Stammlinien.

Bei der Interpretation der DNS-Histogramme besteht die Hauptschwierigkeit darin, daß es dafür keine eigene Terminologie gibt (PFITZER et al, 1976). Lediglich der haploide Chromosomensatz wird mit dem C oder Content beschrieben, wobei 1C der DNS-Menge von $3 \cdot 10^{-12}$ g entspricht. Die Vermehrung der DNS wird mit den Zahlenangaben 2C, 4C, 8C und den Zwischenwerten dargestellt.

421. DNS-Charakterisierung mit Hilfe der Feulgen-Zytophotometrie

Die Charakterisierung der Geschwülste mit Hilfe der quantitativen DNS-Messung bringt verschiedene Vorteile. Beim Patienten ist der Eingriff zur Materialgewinnung sehr gering, darüberhinaus gelangen bei Abstrichpräparaten im Gegensatz zu Schnittpräparaten nur komplette Kerne zur Messung. Weiterhin ist man nicht auf Zellkerne angewiesen, die sich gerade mitotisch teilen. Vielmehr kann die gesamte Zellpopu-

lation erfaßt werden sowie therapiebedingte DNS-Veränderungen an Zellkernen, die sich nicht mehr mitotisch teilen bzw teilen können. Von besonderer Bedeutung ist die Möglichkeit der Untersuchung von Blutzellen, die sich peripher nicht mehr teilen, in ihrem DNS-Gehalt aber durch eine Zytostatika- oder Radiotherapie beeinflußt werden.

Die Zytophotometrie kann mit zwei verschiedenen Systemen durchgeführt werden (PFITZER et al., 1978). Als Geräte stehen sich dabei unter anderen das Durchflußzytophotometer ICP von Phywe und das Scanningzytophotometer SMP von Zeiss gegenüber. Das ICP bietet als Vorteile die große Zahl der Messungen bei geringer Arbeitszeit und die Quantifizierung von nekrotischem Material. Weiterhin ist keine subjektive Selektion der Zellen möglich. Es steht damit im Gegensatz zum SMP, das bei großem Zeitaufwand nur eine geringe Zahl an Messungen zuläßt, wobei die Kerne nach auffallenden morphologischen Kriterien subjektiv ausgewählt werden. Auf der anderen Seite ist die Möglichkeit der morphologischen Kontrolle und der Analyse der Kernstruktur jedoch der Vorteil des SMP gegenüber dem ICP. Das Durchflußzytophotometer wiederum weist als Nachteil neben dem Einschluß normaler Zellen vor allem die Notwendigkeit einer großen Zahl von Zellen für die Messungen auf. Die Entnahme von reichlich Material beim Patienten ist aber mit einem nicht unerheblichen Eingriff verbunden und läßt sich bei der Verlaufsbeobachtung einer Therapie in wöchentlichen Abständen nicht durchführen. Die Abstriche, auf die man deshalb zurückgreifen muß, lassen sich jedoch nur mit dem Scanningzytophotometer untersuchen.

Anlaß für die Limitierung der Zahl der Messungen auf sehr kleine Zahlen war insbesondere die Feststellung, daß auch in Histogrammen, die mit dem Impulszytophotometer gewonnen worden waren und zwischen 30.000 und 40.000 Registrierungen umfaßten noch statistische Schwankungen hinsichtlich des Anteils der einzelnen Zellklassen auftreten. Erst bei Messung von etwa 300.000 Kernen werden diese Schwankungen unbedeutend (PFITZER et al., in Vorbereitung). Da selbst umfangreiche Scanningmessungen kaum mehr als ein Prozent dieser Zahlen erreichen (WARNKE, 1977), ist hier immer mit erheblichen Unsicherheiten zu rechnen. Darüberhinaus hatten Voruntersuchungen gezeigt, daß das unterschiedliche Verhalten der Lymphozytenwerte während der Therapie von größerem Interesse sein dürfte als die mit dem SMP schwer quantifizierbaren Veränderungen innerhalb der Tumorpopulationen.

43. DNS-Untersuchungen bei Tumoren des Kiefer-Gesichtsbereichs

Tumoren des Kiefer-Gesichtsbereichs besitzen neben aneuploiden Stammlinien auch nicht selten euploide, die nicht über den 2C Bereich hinausgehen müssen (KREIDLER, 1976, PAPE und PFITZER, 1973, PFITZER, 1975, PFITZER und PAPE, 1973, PFITZER et al., 1976). Im Falle von diploiden Stammlinien bei der quantitativen DNS-Bestimmung kann die größere Streubreite des DNS-Gehaltes unter Umständen das einzige Kriterium einer Abgrenzung der Malignome vom normalen Gewebe darstellen (SANDRITTER, 1965). Bei den eigenen Befunden sind die Wertehäufungen alle euploid, elfmal liegen sie im 2C Bereich, einmal im 4C Bereich. Um den Begriff der Stammlinie zu verwenden, ist die Zahl von zwanzig gemessenen Tumorzellkernen zu gering. Die Zahl reicht aber vollständig aus, um in Korrelation zu den Lymphozyten Aussagen über den

Verlauf der Therapie zu machen. Weiterhin läßt sich wegen der auch in der Literatur bisher geringen Zahl an gemessenen Tumoren im Kiefer-Gesichtsbereich keine Aussage darüber treffen, ob die Stammlinie vorwiegend im niedrigen euploiden Bereich liegt. Dies ist aber anzunehmen, da es sich bei den Tumoren vorwiegend um hochdifferenzierte Plattenepithelkarzinome handelt. Solche Geschwülste haben eine niedrige Stammlinie. Darüberhinaus besitzen Malignome mit diploider bzw euploider Stammlinie eine bessere Prognose als solche mit höherploider oder aneuploider Stammlinie (ATKIN, 1971, FOSSA, 1975). In Hinsicht auf die Radiotherapie verneint allerdings GANZER (1974) eine Beziehung zwischen dem DNS-Verteilungsmuster und der Strahlensensibilität. Er stellt keinen Zusammenhang zwischen der DNS-Verteilung vor, während und nach einer Strahlenbehandlung und der klinischen Reaktion des Tumors auf die Therapie fest.

44. therapiebedingte Reaktionen der Tumorzellen

Wenn man in den Histogrammen nur die Tumorzellen betrachtet, fällt während des Beobachtungszeitraumes ein Anstieg der aneuploiden, besonders der hypertetraploiden Zellen als Reaktion sowohl auf die radiologische wie auf die zytostatische Therapie auf. Die anfangs im diploiden Bereich liegende Wertehäufung kann sich dabei in den hyperdiploiden Bereich verschieben. Der Zeitpunkt dieser Rechtsverschiebung ist nicht einheitlich. Über diesen Effekt berichten ebenfalls RICHARDS und ATKIN (1959), BELL und BAKER (1962), HUSSLEIN (1967), NITZE (1969), KREIDLER (1976), STECHER (1971).·Die Vermehrung der DNS pro Zellkern soll durch die therapiebedingte Hemmung der Mitose bei fortbestehender DNS-Synthese zustande kommen. Ein Verschwinden der hohen DNS-Werte

in den diploiden Bereich geht auch klinisch einher mit einer deutlichen Tumorregression. Das Verschwinden der höherploiden Zellen kann auf einer mitotischen Teilung beruhen. Wegen der eintretenden Tumorregression und der zunehmenden Nekroseschicht, mit der die ulzerierten Tumoren bei Fortschreiten der Therapie bedeckt waren, ist aber eher anzunehmen, daß diese Zellen untergegangen sind und abgestoßen wurden.

Bei der Behandlung mit Zytostatika ist die Vaskularisation eines Tumors von entscheidender Bedeutung. In der Habilitationsschrift von SCHEUNEMANN (1966) findet sich darüber eine ausführliche Zusammenstellung. Wichtig ist, daß nach CATALAND und Mitarbeiter (1962) die Durchblutung eines Tumors mit steigender Tumorgröße meßbar abnimmt. Wegen der geringen Durchblutung der Zentren eines Tumors treten dort gehäuft Nekrosen auf. Deshalb dürfte es sehr schwierig sein, bei ausgedehnten massiven Geschwülsten eine größere Remission zu erreichen. Nach anfänglicher Regression verbleibt ein Resttumor, der aus Narbengewebe und lebensfähigen Tumorzellen besteht. Hierbei muß man aber auch die Resistenz des Malignoms gegenüber den Zytostatika in Betracht ziehen. Sie kann einmal darauf beruhen, daß die Konzentration der chemotherapeutischen Agentien in dem schwach vaskularisierten Gebiet erheblich vermindert ist. Bei MTX besteht jedoch noch die Möglichkeit einer Umstellung des Zellstoffwechsels, die DESPREZ und Mitarbeiter (1970) als escape-Phänomen bezeichnet haben. Dies kann auf einer verminderten Zellpermeabilität gegenüber dem Medikament, einer vermehrten Synthese des blockierten Enzyms Dihydrofolsäure-Reduktase oder der Entgiftung des Medikamentes beruhen (BERTINO et al., 1961, FISCHER, 1961, JACKSON und CATHIE, 1960). GOLDIE und Mitarbeiter (1972) beschreiben jedoch, daß diese Resistenz durch eine Veränderung der Dosis

und der Einwirkdauer unter Beachtung eng gefaßter Kriterien überwunden werden kann.

45. Kontrolle des Therapieverlaufs an Hand von Veränderungen im Kern-DNS-Gehalt von Tumorzellen und Lymphozyten

451. DNS-Gehalt der Lymphozyten als diploider Vergleichswert

Die bisherigen Ausführungen betrachten die Tumorzellen und deren Veränderungen während der Therapie. In dieser Arbeit werden zur Überwachung des Behandlungsverlaufs erstmalig auch die Kontrollzellen mitherangezogen. Untersuchungen von ATKIN und RICHARDS (1956), HALE (1963), GARCIA (1964) und MAYALL (1969) zeigen, daß die gemessenen Werte bei Feulgen-gefärbten Granulozyten und Lymphozyten zwischen 5 und 15% unter dem erwarteten 2C Wert liegen. ATKIN erhöht deshalb den gemessenen Lymphozytenwert um 10%, um zu dem 2C Wert normaler Epithelzellen zu gelangen (ATKIN und RICHARDS, 1956). Dieser Unterschied findet sich jedoch nicht konstant in der Literatur (PFITZER und PAPE, 1973, COELHO und PFITZER, 1974). Der geringere Wert kann den kleinen Lymphozyten zugeordnet werden, während die großen aktivierten Lymphozyten einen DNS-Gehalt aufweisen, der mit dem 2C Wert der kleinen Tumorzellen übereinstimmt.

452. Einflüsse der Therapie auf den Gehalt an DNS in den Kernen der Lymphozyten und kleinen Tumorzellen

Bei den eigenen Untersuchungen ist vor Therapiebe-

ginn der mit Hilfe des T-Tests bestimmte Unterschied zwischen den beiden Zellpopulationen nur in zwei Fällen signifikant. Die während der Therapie auftretenden hochsignifikanten Differenzen können also durchaus mit den Einflüssen der Strahlen und der Zytostatika in Zusammenhang gebracht werden. In der Art der Einwirkung bestehen jedoch Unterschiede zwischen der Radio- und Chemotherapie.

Bei der Strahlentherapie ist eine strenge Abgrenzung der bestrahlten Körperregion möglich, so daß hier vorwiegend die Tumorzellen von den Strahlen beeinflußt werden, abgesehen von den jede Strahlentherapie begleitenden Allgemeinsymptomen, die sich in den Körperzellen und damit auch in den Lymphozyten niederschlagen. Das Ausmaß der lokalen Schädigung ist außer von der Beschaffenheit der Strahlen nur von den dort herrschenden individuellen Gegebenheiten abhängig. Dazu zählt auch die Sauerstoffversorgung des Gewebes, die zum Zentrum des Tumors hin abnimmt. Die Strahlen treffen aber gleichmäßig auf die Tumoroberfläche. Dort sind deshalb die Zellen nicht nur am stärksten, sondern auch im gleichen Maße geschädigt. Der kontinuierliche Anstieg bei den T-Werten bis zu einem Gipfelwert und der anschließende Abfall der Signifikanz kann deshalb der Ausdruck eines gleichbleibenden Einflusses sein.

Bei der Zytostatikatherapie erfolgt die Wirkung stoßweise, wobei zu beachten ist, daß die hochsignifikanten Unterschiede im DNS-Gehalt der Lymphozyten und kleinen Tumorzellen nicht in Zusammenhang mit einer MTX-Verabreichung stehen. Sie scheinen vielmehr die individuelle Antwort eines jeden Organismus, d.h. sämtlicher Körperzellen, auf die unspezifische Einwirkung von Zytostatika zu sein. Der Zytostatikaeinfluß auf die Tumorzellen und die Lym-

phozyten kann unterschiedlich sein oder sich auf beide Zellpopulationen gleichmäßig erstrecken. Wenn überwiegend die Lymphozyten betroffen werden, äußert sich das darin, daß der Mittelwert der kleinen Tumorzellen geringer wird als der der Lymphozytenkerne. In diesem Fall müßte der T-Wert ein negatives Vorzeichen bekommen, allerdings sind diese Fälle leicht aus den Histogrammen ersichtlich. Weiterhin werden die Mittelwerte der Lymphozyten untereinander während der Therapie signifikant.

Die Wirkung der Zytostatika erstreckt sich jedoch nicht nur auf den Gesamtorganismus, sondern wird von diesem auch mitbeeinflußt. Hier hängt die Art der Schädigung wegen der besonderen Applikationsform nicht nur von den lokalen Verhältnissen, sondern vor allem auch von dem individuellen Zustand des Gesamtorganismus ab. Dementsprechend sollte jeder Tumorpatient nach einem eigenen Therapieschema behandelt werden, um eine gleichmäßige Wirkung zu erzielen. Die Ergebnisse der in dieser Arbeit benutzten Kombinationstherapie lassen die Vermutung zu, daß die Medikamente ungleichmäßig auf die Tumorzelle einwirken. Bevor jedoch mit der dargestellten Methode in Zukunft ein Therapieschema erstellt wird, das unter Berücksichtigung individueller Daten eine gleichbleibende Wirkung hervorruft, sollte noch eine größere Anzahl Patienten untersucht werden.

5. Zusammenfassung

1. Bei zwölf Patienten mit Mundschleimhauttumoren werden Veränderungen im DNS-Gehalt von Tumorzellkernen und Lymphozytenkernen während einer Radio- oder Zytostatikatherapie mit Hilfe der Feulgen-Zytophotometrie in wöchentlichen Abständen beobachtet. Vier Patienten werden radiologisch, acht zytostatisch behandelt.

2. Die Untersuchungen werden mit dem Scanningzytophotometer SMP/Zeiss durchgeführt. Die Messungen sind selektiv und umfassen zwanzig Tumorzellkerne und zehn Lymphozytenkerne. In den vor Beginn der Behandlung angefertigten Abstrichen zeigen elf Geschwülste eine Wertehäufung im 2C Bereich, nur einmal befinden sich vorerst die meisten Zellen im 4C Bereich. Der DNS-Gehalt der Zellansammlungen ist immer euploid. Die wenigen DNS-Werte außerhalb dieser Bereiche können euploid sein, meistens handelt es sich aber um eine aneuploide Vermehrung der Nukleinsäuren. Während der Therapie treten deutliche Unterschiede zwischen dem 2C Wert der kleinen Tumorzellkerne und dem der Lymphozytenkerne auf. Diese mit dem T-Test bestimmten Differenzen steigen bei den radiologisch behandelten Patienten gleichmäßig bis zu einem Maximalwert an und fallen dann wieder ab. Bei den zytostatisch behandelten Patienten ist der Verlauf meist wellenförmig.

3. Diese erstmals erfaßten Veränderungen werden in Abhängigkeit von der Therapie gesetzt. Dabei zeigt sich, daß das empirische Therapieschema bei den Zytostatika den individuellen Erfordernissen nicht gerecht zu werden scheint. Die dargestellte Untersuchungsmethode sollte deshalb zur Erstellung eines Therapieschemas benutzt werden, das den

individuellen Erfordernissen gerecht wird.

6. Literaturverzeichnis

1. ATKIN, N. B. — Modal DNA-value and chromosome number in ovarian neoplasma
Cancer 27, 1064 - 1073, 1971

2. ATKIN, N. B.
B. M. RICHARDS — Desoxyribonucleic acid in human tumors measured by microspectrophotometry of Feulgen stain : a comparison of tumors arising at different sites
Brit. J. Cancer 10, 769 - 786, 1956

3. ATKIN, N. B.
G. MATTINSON
M. C. BAKER — A comparison of the DNA-content and chromosome number of fifty human tumors
Brit. J. Cancer 20, 87 - 101, 1966

4. AUERSPERG, M.
M. US-KRASOVEC
M. ERJAVEC
ST. PLESNICAR — Early results of intraarterial application of Bleomycin, Methotrexate and Proresid in locally advanced head and neck tumors
Acta med. jug. 28, 421 - 429, 1974

5. BADER, S. — Distribution of desoxyribose nucleic acid in tumor nuclei
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 82, 312 - 315, 1953

6. BAUKE, J.
K. SCHÖFFLING — Polyploidy in human malignancy
Cancer 22, 686 - 694, 1968

7. BAUMBERGER, K. Das Zytostatikum Bleomycin bei malignen Tumoren im otorhinolaryngologischen Bereich Schweiz. med. Wschr. 103, 212 - 216, 1973

8. BELL, A. G.
D. G. BAKER Irridation - induced chromosome aberrations in human leukocytes in culture Canad. J. Genet. Cytol. 4, 340 - 351, 1962

9. BERDAL, P.
T. EKROLL
O. H. IVERSEN
R. WEYDE Treatment of squamous cell carcinomas in head and neck with Bleomycin and with combined Bleomycin and X-rays Acta Otolaryng. 75, 318 - 320, 1973

10. BERTINO, J. R.
F. M. HUENNEKENS
M. GABRIO Increased activity of leucocyt dihydrofolic reductase in amethopterin-treated patients Clinical Res. 9, 103, 1961

11. BERTINO, J. R.
M. B. MOSHER
R. C. DECONTI Chemotherapy of cancer of the head and neck Cancer, 1141 - 1149, 1973

12. BILDER, J.
J. HORNOVA Synchronized combination Bleomycin-Methotrexate in regional chemotherapy of orofacial carcinomas Neoplasma 21, 335 - 342, 1974

13. BITTER, K. Relations between histology, TNM-category and results of treatment with Methotrexate-Bleomycin-combination in squamous cell carcinomas of the oral cavity
J. max.-fac. Surg. 1, 113 - 117, 1973

14. BITTER, K. Erste Ergebnisse der zytostatischen Behandlung von Plattenepithelkarzinomen der Mundhöhle mit einer Kombination von Methotrexat und Bleomycin
Dtsche. Zahn-. Mund- und Kieferheilkunde 60/2, 81 - 93, 1973

15. BÖHM, N.
W. SANDRITTER DNA in human tumors : a cytophotometric study
Curr. Top. Pathol. 60, 151 - 219, 1975

16. BROQUET, M. A.
E. JACOT-DESCOMBE
A. MONTADON
P. ALBERTO Traitement des carcinomes épidermoides oro-pharyngolaryngès par combinaison de Mèthotrexate et de Blêomycine
Schweiz. med. Wschr. 104, 18 - 22, 1974

17. BURKHARDT, A.
W.-J. HÖLTJE The effects of intraarterial Bleomycin therapy on squamous cell carcinoma of the oral cavity
J. max.-fac. Surg. 3, 217 - 230, 1975

18. CATALAND, S.
C. COHEN
L. A. SAPIRSTEIN
A relationship between size and perfusion rate of transplanted tumors
J. Nat. Cancer Inst. 29, 389 - 394, 1962

19. CHRISTENSEN, L.
Bleomycin, ein neues Antitumor-Antibiotikum zur Behandlung neoplastischer Krankheiten
Wien. klin. Wschr. 46, 737 - 743, 1972

20. COELHO, C. P.
P. Pfitzer
Zytophotometrische Bestimmung des DNS-Gehaltes von Zellkernen verschiedener Tumoren und ihrer Metastasen
Arch. Geschwulstforsch. 43, 217 - 238, 1974

21. DESPREZ, J.
C. L. KIEHN
C. SCIOTTO
G. M. RAMIREZ
Response of oral carcinoma to preoperative Methotrexate infusion therapy
The Am. J. of Surg. 120, 461 - 465, 1970

22. DIMOPOULOS, J.
K. HOLLMANN
J. KÜHBOCK
Zur Behandlung fortgeschrittener Geschwülste im Kieferbereich
Strahlentherapie 149, 346 - 352, 1975

23. FISCHER, G. A.
Increased levels of folic acid reductase as a mechanism of resistance of amethopterin in leukaemic cells
Biochem. Pharmacol. 7, 75 - 77, 1961

24. FOSSA, S. D.
Feulgen-DNA-values in transitional cell carcinoma of the human urinary bladder
Beitr. Path. 155, 44 - 55, 1975

25. FRIES, R.
K. H. WILFERT
Über die Verwendung von Bleomycin bei Patienten mit inkurablen Mundhöhlenkarzinomen
Österr. Z. Erforsch. Bekämpf. Krebskr. 28, 29 - 32, 1973

26. GANZER, U.
Beziehungen zwischen dem DNS-Verteilungsmuster und der Strahlensensibilität verschiedener Gewebe des Kopf- und Halsbereichs
Arch. Oto-Rhino-Laryng. 206, 155 - 172, 1974

27. GARCIA, A. M.
Studies on DNA in leukocytes and related cells of mammals. III The Feulgen-DNA-Content of human leukocytes
Acta Histochem. (Jena) 17, 230 - 245, 1964

28. GOLDIE, J. H.
L. A. Price
K. R. HARRAP
Methotrexat-Toxizität in ihrer Beziehung zur Dosis, Anwendungsdauer, Ausscheidung und zum Plasmaspiegel
Europ. J. Cancer 8, 409 - 414, 1972

29. HALE, A. J. The leukocyte as a possible acception to the theory of desoxyribonucleic acid constancy
J. Path. Bact. 85, 311 - 326, 1963

30. HUSSLEIN, H. Zytogenetische und zytochemische Untersuchungen bei malignen Tumoren
Klin. Wschr. 45, 746, 1967

31. JACKSON, W. I. A. B. CATHIE The inactivation of folic acid antagonists by normal and leukaemic cells
Biochem. Pharmacol. 5, 130 - 142, 1960

32. KOLLER, P. C. The role of chromosomes in cancer biology
Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1972

33. KREIDLER, J. DNA-Gehalt und Proliferationskinetik der Karzinome des Kiefer- und Gesichtsbereichs
Westdeutscher Verlag Opladen, 1976

34. MAYALL, B. H. Desoxyribonucleic acid cytophotometry of stained human leukocytes
J. Histochem. Cytochem. 17, 249 - 275, 1969

35. NITZE, H. R.
Zytologische Untersuchungen an Tumoren mit unterschiedlichem klinischen Verhalten
Arch. klin. Ohr.-, Nas.- und Kehlk. Heilk. 193, 112 - 120, 1969

36. PAPE, H.-D.
P. PFITZER
The nuclear DNA-content of tumor cells in the oral cavity
J. max.-fac. Surg. 1, 117 - 121, 1973

37. PFITZER, P.
Die Charakterisierung von Tumorzellpopulationen durch DNS-Messungen (Referat)
Zbl. Path. 119, 457, 1975

38. PFITZER, P.
H.-D. PAPE
Characterisation of tumor cell populations by DNA-measurements
Acta cytol. 17, 19 - 26, 1973

39. PFITZER, P.
K. VYSKA
G. STECHER
Zur Analyse von DNA-Histogrammen durch Computer
Beitr. Path. 159, 157 - 185, 1976

40. PFITZER, P.
J. KREIDLER
S. WESTENBERGER
R. SCHALBRUCH
Concordance and discrepancy between pulse and scanning cytophotometry of nuclear DNA
in LUTZ, D.: IIIrd Intern. Symp. Pulse Cytophotometry, European Press, Ghent, 1978

41. PFITZER, P.
K. VYSKA
J. KRAUSHAAR
Programm einer Analyse von DNA-Histogrammen in Vorbereitung

42. RICHARDS, B. M.
N. B. ATKIN
DNA content of human tumors: change in uterine tumors during radiotherapy and their response to treatment
Brit. J. Cancer 13, 788 - 800, 1959

43. SANDRITTER, W.
DNA- content of tumors, cytophotometric measurements
Europ. J. Cancer 1, 303 - 307, 1965

44. SCHEUNEMANN, H.
Experimentelle und klinische Untersuchungen zur intraarteriellen Chemotherapie inoperabler maligner Tumoren im Kiefer- und Gesichtsbereich
Carl Hanser Verlag München, 1966

45. STECHER, G.
Cytophotometric studies of tumor cells
Abstract 4th internat. Congress Cytol. 62, London 1971

46. WARNKE, H.
Vergleichende zytophotometrische DNA-Untersuchungen an menschlichen, rasch wachsenden Hirntumoren
Diss. Köln 1977

LEBENSLAUF

Am 13. Januar 1953 wurde ich als Sohn des Elektromeisters Hans Frieß und seiner Ehefrau Ellen, geb. Becker in Wuppertal-Ronsdorf geboren.

Nach dem Volksschulbesuch in Wuppertal-Ronsdorf wurde ich 1963 auf das städtische neusprachliche Gymnasium in Wuppertal-Barmen aufgenommen. Dort erhielt ich im Jahre 1971 das Zeugnis der Reife. Zwischenzeitlich war im Jahre 1967 meine Mutter verstorben.

Das Studium der Zahnmedizin begann ich im Wintersemester 1971/72 in Köln, wo ich im Sommer 1977 das Staatsexamen ablegte. Seit dem Wintersemester 1977/78 studiere ich an der Universität Düsseldorf Medizin.